

Szénhidrátok meghatározása növényi anyagokban antron reagenssel I.

MÁRKUS LÁSZLÓNÉ

Agrokémiai Kutató Intézet Biokémiai Osztálya, Budapest

A szénhidrátok meghatározására ajánlott módszerek száma meglehetősen nagy, mert a nehézségek kiküszöbölésére több-kevesebb sikerrel számos módosítást hajtottak végre. Ezeket a meghatározási módokat általában három főcsoportba lehet összefoglalni aszerint hogy,

1. a cukrok redukálóképességének sajátosságát, vagy
2. a különböző fenollokkal és szerves aminokkal, mint pl. α -naftolammal, fenollal stb. adott színreakcióját, vagy
3. egyéb tulajdonságaikat (oldhatatlan vegyületképzés, enzimes elbomláskor keletkező CO_2 mérés, polarimetria, refraktometria stb.) használják fel.

Mindegyik módszernek — a nehezen kivitelezhető enzimátikus módszereket kivéve — általában az a hibája, hogy nem elég specifikus és a kísérő anyagok (aminosavak, fehérjék, egyéb redukáló anyagok) zavarják. Az irodalmi adatok alapján úgy látszik, hogy a specifitás a színreakciók alkalmával kedvezőbb. Ezek a tények magyarázzák azt, hogy jóformán vizsgálati anyagoként kell megválasztani a megfelelő módszert és azt is, hogy pl. Pflüger (1898) óta a Fehling-módszernek 29 módosítása és a jóval újabb keletű Hagedorn—Jensen-módszernek is több mint 20 féle módosítása ismert. Mindemellett elengedhetetlen a vizsgálati anyag előzetes tisztítása.

További problémát jelent, hogy a polimer szénhidrátok meghatározásakor előzetes hidrolizist kell végezni ahhoz, hogy pl. a redukáló cukrot meghatározhassuk. Ez természetesen növeli a hibaforrást.

A redukálóképesség alapján való meghatározás nehézségeit fokozza a különböző szénhidrátok eltérő reakcióképessége, valamint az a tény, hogy a redukálóképesség és a szénhidrát mennyisége nem minden esetben mutat egyenes arányú sztöchiometriai összefüggést. Hozzájárul ehhez még az is, hogy a redukálóképesség alapján történő meghatározás — amennyiben ez a szénhidrát struktúrája következtében lehetséges — metodikai szempontból több részletművelet miatt bonyolult és rutinvizsgálatokra nem alkalmas.

Növényi anyagok vizsgálatára az irodalom áttanulmányozása alapján legelőnyösebbnek az antron reakció látszik, mert kivitelezése gyors és igen egyszerű, a reagens előállítása pedig nem jár különösebb nehézségekkel (3). Oldhatatlan poliszaharidok esetén előzetes hidrolizisre nincs szükség, mert a reakcióban alkalmazott kénsav a hidrolizist elvégzi.

Az antronreakció tanulmányozása növényi szénhidrátok meghatározására annál is indokoltabb, mivel növényi analízisekre vonatkozó adatok alig állnak rendelkezésünkre (5, 12), bár széles körben alkalmazzák a vércukor, ipari segédanyagok, gyógyászati termékek stb. vizsgálatára.

Számos közlemény foglalkozik az antronreakciót befolyásoló körülmények vizsgálatával, azonban a különböző szerzők egyrészt más-más reakciókörü-

ményeket választottak az egyes szénhidrát-féleségek meghatározására, másrészt különböző fotométereket használtak a színintenzitás mérésére. Ezért szükségesnek láttam munkámat a szénhidrátok azonos körülmények között való meghatározásával kezdeni. Ennek megfelelően Pulfrich-fotométerrel vizsgáltam néhány fontosabb szénhidrát meghatározásának feltételeit, nevezetesen:

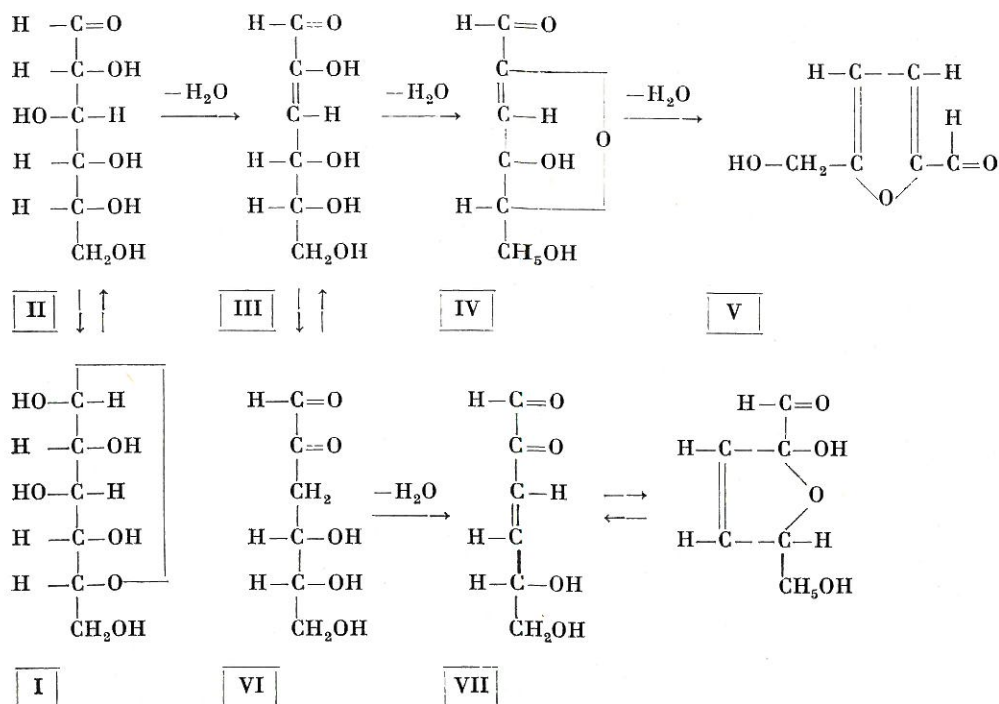
1. a szín kifejlődését 100 C°-on való melegítés függvényében,
2. a kifejlődött szín állandóságát,
3. az antronált származék tipikus színgörbéjét és
4. az extinkció és a koncentráció közötti összefüggést.

Az antronnal történő szénhidrát meghatározás alapja az, hogy a szénhidrátok kénsavas közegben, víz elvonása mellett, furánaldehid származékká alakulnak és az antronnal kondenzálva színes (fűzőld) terméket képeznek 540—620 milimikron közti maximummal. A színnek időben való kialakulása és intenzitása, adott körülmények mellett, a jelenlevő szénhidrát-féleségek milyenségének és mennyiségének függvénye. A reakció igen érzékeny, pl. a keményítőre nézve negyvenszer érzékenyebb a jódelekciónál. 1 : 900 000 hígításban is észlelhető (2).

Tekintve, hogy a magyar szakirodalomban az antronreakcióval foglalkozó cikk még nem jelent meg, az alábbiakban röviden ismertetem az erre vonatkozó külföldi szakirodalmat:

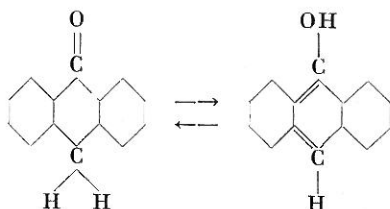
Az antronreakciót Dreywood (2) használta először a Mollisch-féle α -naftol reakcióhoz hasonlóan, szénhidrátok minőségi vizsgálatára, amelyet más kutatók (13, 8, 10, 11, 12, 17) mennyiségi módszerre dolgoztak ki.

Az átalakulás mechanizmusát a d-glukózon Wolfrom, Schuetz és Cavalieri (25) tanulmányozták és az átalakulásra a következő reakciót állítják fel:



A hidroxialdehidekből hidroximetil-furfurol keletkezik, a pentózokból pedig furfurol. Különböző szénhidrátok esetén a színkifejlődés ideje különböző.

Tekintettel arra, hogy az antron oldatában egyensúlyi viszony áll fenn a keto és az enol forma között



bizonyos véleménykülönbség merült fel arra vonatkozóan, hogy a keto (7) vagy az enol forma (6) (23,24) reakcióképesebb a szénhidrátokból származó furfurollal szemben. E kérdést részletesen Black (1) tárgyalja, aki alátámasztja Wolfrom és munkatársainak elgondolását.

Koehler (10) részletesen megvizsgálta a különböző szerkezetű cukrok reakcióját antronnal és ennek alapján három csoportba osztotta azokat:

1. Aldohezős típusú szénhidrátok (glukóz, dextrin, amilóz, galaktóz, mannóz, guaran, glikogén) melegítéskor csak lassan reagálnak, 5–10 perc múlva érik el a színintenzitás maximumát. A kifejlődött szín további hevítésre lassan csökken.

2. Ketohezős típusú szénhidrátok (fruktóz és polimerjei, inulin, szorbóz) színintenzitásuk maximumát 0,5–2 perces melegítésre érik el és további melegítésre ez fokozottabban csökken.

3. A pentóz típusú szénhidrátok (arabinóz, ribóz, xylóz, xylán) 2 perces melegítésre érik el a legnagyobb színértéket, de 4–5 perces melegítésre ez gyorsan csökken.

Számos szerző tanulmányozta a reakció lefolyását, a színnek időben való kialakulását és intenzitását befolyásoló körülményeket. Ezen közleményekből megállapítható, hogy a legfontosabb befolyásoló tényezők a következők:

1. a kénsav koncentrációja (1);
2. a szénhidrát struktúrája, (5);
3. több szénhidrát együttes jelenléte (5, 10);
4. a szénhidrátmolekula szubsztituáltsága (1);
5. igen nagy mértékben a hőmérséklet (10).

Black (1) részletes vizsgálat tárgyává tette a kénsav koncentráció-jának hatását a szín időbeli kifejlődésére és a szín intenzitására. Azt találta, hogy kisebb töménységű kénsavban a szín gyorsabban fejlődik ki, de nem állandó. A nagyobb koncentrációjú kénsav viszont nagyobb színintenzitást eredményez. Így 0,5 mg cellulóz 80%-os kénsavban közel azonos áteresztőképességű, mint 1 mg cellulóz 60%-os kénsavban.

A kénsavkoncentráció megválasztásával módunkban áll a kolorimetrikus meghatározás érzékenységét változtatni, de egyúttal ügyelnünk kell arra, hogy a reakció kivitelezésekor a kénsavkoncentrációt betartsuk, a vizsgálandó oldat és a reagens arányait állandónak véve.

Az irodalomban leírt módszerek mind megegyeznek abban, hogy a reagenst 90–95%-os kénsavban oldják, amelyben a reagens jól oldódik és egyben jó oldószere a nehezen oldható poliszaharidoknak, mint pl. a cellulóznak is. A kénsav végső koncentrációja nem lehet 50%-nál alacsonyabb, mert különben az antron teljes szuszpenzióként kicsapódik (3).

A hőmérsékletet illetően a reakció kivitelének több formáját használják. Az egyik módszer az, hogy a hevítést a kénsav hígításakor felszabaduló hőre bízzák (13, 14, 15, 16, 22). Ebben az esetben több feltételt kell pontosan betartani, pl. az elegyítés módját és gyorsaságát, a használt kémcsövek átmérőjét, mert csak így kaphatunk reprodukálható értékeket. Hibahatára $\pm 5\%$. Pontosabb a módszer, ha elegyítés után bizonyos ideig vízfürdőn melegítjük (1, 10, 12, 17). Ilyenkor a módszer hibahatára 2–5% között van (13, 15). Egyesek (20, 21) a módszer pontosabbá tételére a kénsavas antronra rétegzik a vizsgálandó oldatot, a drótkosárban egyszerre összerázzák a kémcsövek tartalmát és vízfürdőn hevítik.

Az antronreagens színreakciója szénhidrátokkal specifikusnak mondható (13), bár egyéb vegyületek is reagálnak más színnel. A fehérjék vörös (4, 13, 24), a triptofán narancsvörös színű terméket létesít (13). Seifter és munkatársai (17) az aminosavak zavaró hatását vizsgálták és megállapították, hogy ha azok nagyobb mennyiségben vannak jelen, eltávolítandók, különösen a triptofán, amely mind szabad, mind kötött formában zavarja a reakciót (18). A glicerinnarancsvörös színeződést ad (12) a polivinilalkohol vöröset (13) az ascorbinsav meggyvöröset (16), néhány vegyület pedig kék színt létesít (4, 17). A glioxan fluoreszkáló származékot létesít (13), a furfurol zöld színe hamar barna csapadékká alakul (2). Graff és munkatársai (4) a szteroidok közül

a 11-dezoxikortikoszteron meghatározását ajánlják az antronreakció alapján. Lehmann (8) nem közölt adatai szerint a piroszólósav, piroszólósavalehid, aceton, tejsav, hűgysav is reagál az antronnal 470–570 millimikron közötti maximummal.

A meghatározást nem zavarják a zsírsavak, aldehidek, zsírok, terpének, alkaloidák, a zselatin, a purin és pirimidin származékok (2), levulinsav, metilglioxan (16), glukuronsav, glukozamin (19), szorbitol (1), foszfátok és szilikátok. De a zsírsavak polioxi-etilén származékai, a fenolok és a triptofán a színképződést csökkentik (1).

Az antronreagens előállítása és alkalmazása. Az antront legegyszerűbb antrakinnből előállítani hidrogénnel való redukció útján (3). Két literes, visszafolyós hűtővel felszerelt gömb-lombikban 104 g antrakinnont, 100 g granulált ónt és 750 ml jégecetet elegyítünk. Felforraljuk és két óra alatt 250 ml, 1,19 fajsúlyú sósavat adagolunk a forró elegyhez 10 ml-es részletekben. Az antrakinnnak teljesen oldatba kell mennie. Ha ez nem történik meg, akkor több sósavat és ónt kell hozzáadni. Az oldatot Gooch-tégelyen szűrjük és 100 ml vizet adunk hozzá. Az oldat 10 °C-ra hűtésekor az antron kikristályosodik (kb. 80 gr). Átkristályosítjuk benzol-petroléter 3 : 1 arányú keverékéből. Az antron olvadáspontja 154–155 °C.

Az antront leginkább 0,2%-os koncentrációban használják, ritkább esetben 0,5% (18) és 0,05%-ban (15). Az utóbbi esetben természetes en nagyobb mennyiségű reagenst alkalmaznak. A vizsgálandó oldat aránya a reagenshez általában 1 : 2.

Az irodalmi adatok megegyeznek abban, hogy a reagens négy napon túl nem tárolható (15, 24). Tárolásra sötét, hideg hely ajánlatos (18). Black (1) szerint legelőnyösebb előző este, vagy használat előtt négy órával elkészíteni. A reagens állás közbeni változása nyilvánvalóan az antron szerkezetével függ össze, amint ezt a reakció mechanizmusánál tárgyaltuk (24).

Kísérleti rész

Törzsoldatok készítése. A vizsgált szénhidrátokból az 1. táblázatban feltüntetett mennyiségeket desztillált vízben, a cellulózt (vatta, szűrőpapír) 60%-os kénsavban, a glikogént híg nátronlúgban, az inulint melegítéssel, a xylánt pedig 1 perces forrással oldottam.

A nagyobb pontosság kedvéért legalább 20 mg-ot mértem be törzsoldat készítéséhez.

Használt vegyszerek: A vizsgálatokhoz lehetőség szerint pro anal. készítményeket használtam, kivéve a xylánt, amelyet Salkowsky eljárása szerint készítettem búzaszalmából, a nyers inulint pedig megtisztítottam (9). Az antront az Agrokémiai Kutató Intézet Biokémiai Osztályán állítottuk elő.

A reagens készítése: 50 ml desztillált vízhez egy liter koncentrált kénsavat adtam és az így felhígított és lehűtött kénsav 100 ml-ében 0,2 gr antront oldottam. A reagenst legtöbbször előző este, vagy a felhasználás előtt 4 órával készítettem és jégszekrényben tároltam legfeljebb 2 napig.

Módszer: A megfelelően hígított törzsoldatokból 2,5 ml-t, (10–200 gamma szénhidrát per ml) azonos átmérőjű (17 mm) csiszolt dugós bórszilikát kémcsőbe pipettáztam és csapvízben állandóan hűtve, gyorsfolyású bürettából, kb. 2 perc alatt 5 ml antron reagenst csepegtettem hozzá. (A csapot nem szabad megzsírozni!). A kémcsöveket 2–10 percig forrásban levő vízfürdőre tettem, majd 15 percig csapvízben hűtöttem és mértem Pulfrich fotométeren S 61-es szűrőn.

1. táblázat

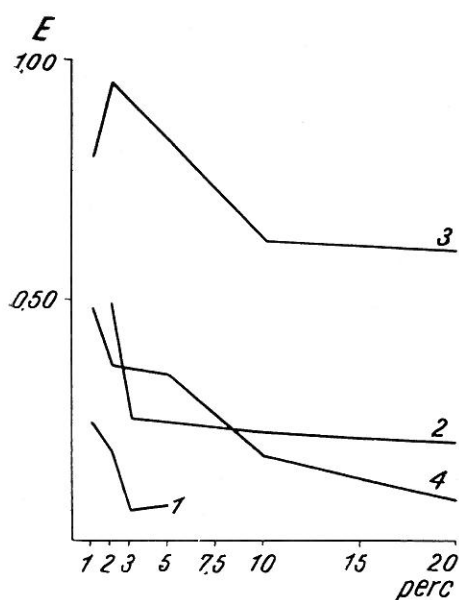
A törzsoldat készítésére használt mennyiségek

Szénhidrát	Mg-anyag oldva	ml-ben	Mg/100 ml
Arabinóz ...	40	100	40
Ribóz	30	200	15
Xylán	20	100	20
Xilóz	20	100	20
Cellóbióz ...	20	100	20
Cellulóz	20	200	20
Galaktóz ...	20	100	20
Glikogén ...	40	200	20
Glukóz	20	200	10
Keményítő ..	20	200	10
Maltóz	30	200	15
Fruktóz	20	200	10
Inulin	20	200	10
Pektin	20	100	20
Szaharóz ...	20	200	10

Edények: Tekintve, hogy a módszer szénhidráttartalmú szennyezésekre (por, szűrőpapír, gyapotszálcscsa, parafadugó törmelék stb.) rendkívül érzékeny, mindig kromkénsavval mosott és szárított edényeket használtam, kizárólag üvegszűrőn szűrtem és üveg dugót használtam.

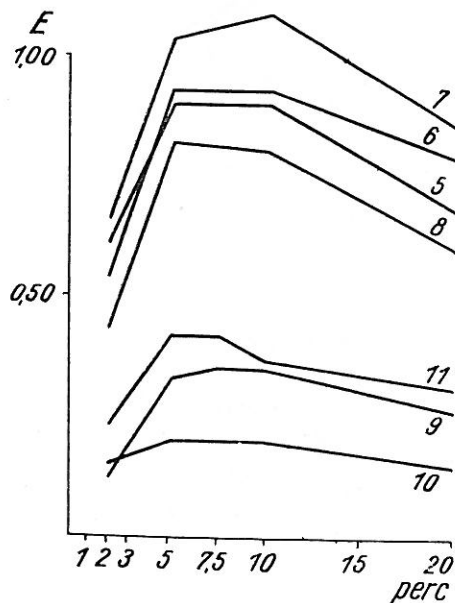
Vizsgálatok

Az antronált származékok tipikus színgörbéi. A megfelelő színszűrő kiválasztására megvizsgáltam a különböző szénhidrátok fényelnyelését a Pulfrich-féle fotométer színszűrőjével.



1. ábra

A melegítés időtartamának hatása a szín kialakulására pentóz típusú szénhidrátok esetén. 1. xilóz; 2. arabinóz; 3. ribóz; 4. xilán.



2. ábra

A melegítés időtartamának hatása a szín kialakulására aldóz típusú szénhidrátok esetén. 5. glükóz; 6. maltóz; 7. galaktóz; 8. cellóbióz; 9. keményítő; 10. glikogén; 11. cellulóz.

Az antronált származékok vizsgálatára a Pulfrich-fél fotométer S 61-es szűrője bizonyult a legmegfelelőbbnek, amelynek fényelnyelési maximuma 620 millimikron.

A színekfejlődés vizsgálata. Megvizsgáltam, hogy a különböző szénhidrátok esetében miként változik a szín intenzitása, ha a reakcióelegyet 100 C°-on különböző ideig melegítjük.

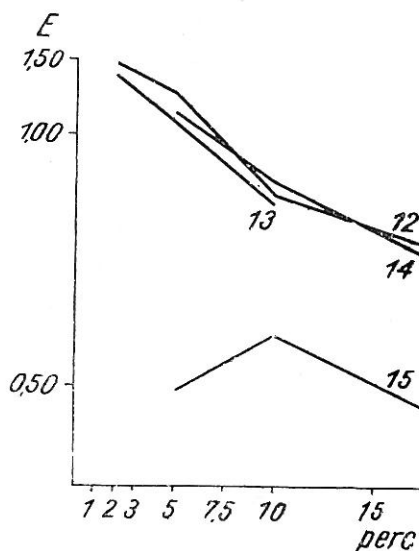
A mérések igazolják a Koehler-féle csoportosítás helyességét. A vizsgált szénhidrátok antronált származékai színintenzitásuk szerint három típust mutatnak:

1. A pentóz típusú szénhidrátok (arabinóz, ribóz, xilóz és xilán) 1—2 percen belül eléri színintenzitásuk maximumát, amely további melegítésre rohamosan csökken.

2. Az aldohexoz típusúak (cellobióz, galaktóz, glikogén, glükóz, keményítő, maltóz) színintenzitásuk maximumát 10 perc múlva éri el, ami további hevítésre lassan csökken. A cellulóz 60%-os kénsavas oldatban 5 perc alatt éri el a maximális színintenzitást.

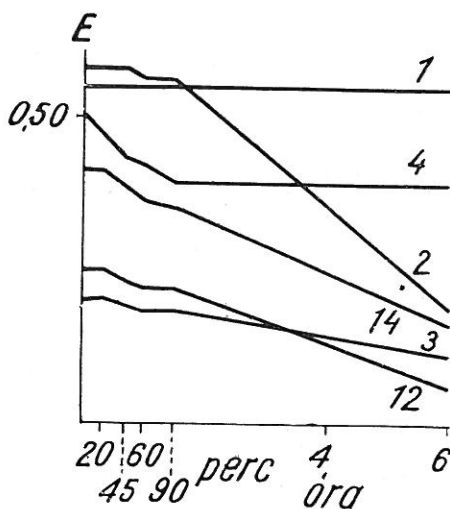
3. A ketóz típusúak (fruktóz, inulin, pektin) 2 perc alatt érik el a maximális színintenzitást és további hevítésre fokozatosan veszítenek ebből. Ezek tehát közbeeső helyet foglalnak el a pentóz és aldohexoz típusú szénhidrátok között, mind a színekifejlődés ideje, mind a színintenzitás csökkenése szempontjából. A szacharóz 5 perces hevítésre éri el a maximális színintenzitást, ami valószínűleg összefügg azzal, hogy a hidrolizátumában glukóz és fruktóz van jelen.

Az antronált termékek színállandóságának vizsgálata. A melegítés idejének



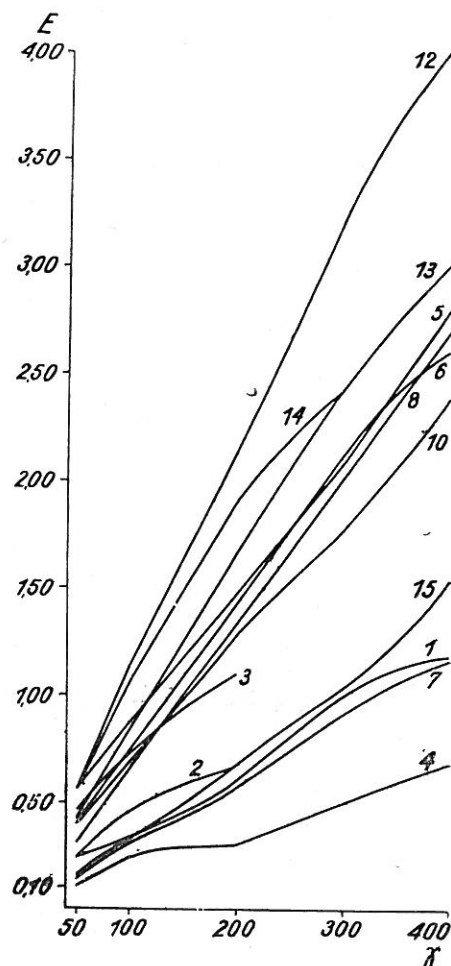
3. ábra

A melegítés időtartamának hatása a szín kialakulására ketóz típusú szénhidrátok esetén. 12: fruktóz; 13: szacharóz; 14: inulin; 15: pektin.



4. ábra

Színintenzitás csökkenése 6 órai állás után. 1: xilóz; 2: ribóz; 3: arabinóz; 4: xilán; 12: fruktóz; 14: inulin.



5. ábra

A vizsgált szénhidrátok koncentrációs görbéi. 1: xilóz; 2: ribóz; 3: arabinóz; 4: xilán; 5: glükóz; 6: maltóz; 7: galaktóz; 8: cellóbióz; 10: keményítő; 12: fruktóz; 13: szacharóz; 14: inulin; 15: pektin.

vizsgálatára beállított kísérleti anyagot bizonyos időközökben (20, 45, 60, 90 perc, 6, 12, 21, 36 óra) újra mértem, hogy a kialakult szín időbeni változására adatokat nyerjek. A színintenzitás csökkenése másfél órán belül jelentéktelen, nem terjed túl a mérési hibahatáron. Tehát a mérések a hűtés befejezésétől számított 1—1,5 órán belül elvégezhetők. 6 órai állás után erős csökkenést mutat az arabinóz, ribóz, fruktóz és az inulin (4. ábra), míg az aldohexóz típusú szénhidrátok teljes egészükben, a pentózok közül a xilóz és a xilán, 36 óra elteltével is erős színt mutatnak. Ez a különbség esetleg felhasználható további differenciálásra.

A színintenzitás összefüggése a koncentrációval. A különböző szénhidráttartalmú oldatok extinkció értékének változását az 5. ábra mutatja be.

Az 50—400 gamma per 2,5 ml mennyiségi határok között jól reprodukálható koncentrációs görbéket kaptam. A cellulóz 60%-os kénsavas oldatban 200 gammáig mérhető. Az egyes szénhidráttípusok koncentrációs görbéinek lefutásában bizonyos különbség mutatkozik. A pentóz típusúaké kevésbé meredek, az aldohexozoké meredekebb és legmeredekebb a ketohexozoké. Az egyes csoportokon belüli ingadozásokat a szennyezések okozhatják.

A fenti munkámat a M. T. A. támogatásával, férjem útmutatása alapján végeztem. Ez úton mondok köszönetet Doby Géza professzor úrnak értékes tanácsaiért.

Összefoglalás

Megvizsgáltam egységes körülmények között 15 szénhidrátféleség meghatározásának körülményeit modelloldatokban. Következőket állapítottam meg:

1. A színintenzitás a reakcióelegy melegítésének (100 C°) idejétől függ. Ezen az alapon a szénhidrátok 3 csoportba sorolhatók, amelyek viselkedése a grafikonokon leolvashatóan a következő: (1, 2, 3, grafikon) a) pentóztípus: hamar érik el a színmaximumot és az gyorsan csökken. b) ketóztípus: hamar érik el a színmaximumot és az mérsékelten csökken. c) aldóztípus: hamar érik el a színmaximumot és az lassan csökken.

2. Az antronált származékok fényelnyelési maximuma a Pulfrich-féle fotométernél az S 61 szűrőnél van.

3. Az egyes szénhidrátféleségek koncentrációs görbéit 50—400 γ között vettem fel.

4. Az antronreagens 168 órán át lényegesebb változás nélkül eltartható, az antronált származékok mérése pedig 60 percen belül végezhető el.

Érkezett: 1954. január 10.

Irodalom

1. Black, H. C. Jr.: Anal. Chem. **23**. 1792. 1951.
2. Dreywood, R.: Ind. and Eng. Chem. **18**. 400. 1946.
3. Gilman, H. & Blatt, A. H.: Organic Syntheses. I. 60. John Wiley & Sons, New-York 1941.
4. Graff, M. M., Greenspan, E. M., Lehmann, I. R. & Holeschek, J. J.: J. of Lab. and. Clin. Med. **37**. 736. 1952.
5. Johansson, R.: Nature **171**. 176. 1953.
6. Kapp, E. M.: J. Biol. Chem. **90**. 1943. 1951.
7. Karrer, P.: Lehrbuch der Organischen Chemie. 464. Georg Thieme. Leipzig. 1942.
8. Kibrick, A. C., Rogers, J. E. & Skupp, S.: J. Biol. Chem. **24**. 1576. 1952.
9. Klein, G.: Handbuch der Pflanzenanalyse. III/I. 38. Julius Springer. Wien. 1932.
10. Koehler, L. H.: Anal. Chem. **24**. 1576. 1952.
11. Kowald, J. A. & McCornack, R. B.: Anal. Chem. **21**. 1383. 1949.
12. McCready, R. M., Guggolz, J., Silveira, V. & Owens, H. S.: Anal. Chem. **22**. 1156. 1950.
13. Morris, D. L.: Science **107**. 254. 1948.

14. Morse, E. E. : *Anal. Chem.* **19**. 1012. 1947.
15. Samsel, E. P. & DeLap, R. A. : *Anal. Chem.* **23**. 1795. 1951.
16. Sautler, L. : *Science* **108**. 207. 1948.
17. Seifter, S., Dayton, S., Novic, B. & Muntz, E. : *Arch. Biochem.* **25**. 191. 1950.
18. Shetlar, M. R. : *Anal. Chem.* **24**. 1844. 1952.
19. Smith, P. B., & Pollard, A. L. : *J. Bact.* **63**. 129. 1952.
20. Trevelyan, W. E., & Harrison, J. S. : *Biochem. J.* **50**. 298. 1952.
21. Trevelyan, W. E., Forrest, R. S. & Harrison, J. S. : *Nature*. **170**. 626. 1952.
22. Viles, F. J., & Silverman, L. : *Anal. Chem.* **21**. 950. 1949.
23. Wolfson, M. L., Schuetz, R. D. & Cavalieri, L. F. : *J. Amer. Chem. Soc.* **70**. 514. 1948.
24. Zipf, R. E., Waldo, A. L., & Dayton, M. S. : *J. Lab. Clin. Med.* **39**. 497. 1952.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ УГЛЕВОДОВ В РАСТИТЕЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВАХ АНТРОНЫМ РЕАГЕНТОМ. I.

Маркуш Л.

Биохимическое Отделение Агрохимического Научно-Исследовательского Института, Будапешт.

Резюме

О проводимом антрономными реагентами определении углеводов я дала литературную информацию. Я исследовала обстоятельства определения 15 разновидностей углеводов в модельных растворах, проводимого в одинаковых условиях. Мною установлено следующее :

1. Как изменяется интенсивность света в случае различных углеводов при подогреве реактивной смеси в продолжение разного времени при температуре 100°C. На этом основании углеводы, как подтверждается также и исследованиями Кэлера, могут быть разделены на три группы, поведение которых может быть отсчитано с приведенных графиков (графики №№ 1, 2, 3): а) пентозный тип : цветовой максимум достигают быстро и он снижается быстро ; б) кетозный тип : цветовой максимум достигают быстро и он снижается умеренно ; в) альдозный тип : цветовой максимум достигают быстро и он снижается медленно.

2. Светопоглощительный максимум антронозированных производных при фотометре Пульфриха находится у сита S 61.

3. Концентрационные кривые углеводных разновидностей мною составлены при 50—400 б.

4. Антронный реагент без существенных изменений может храниться в течение 168 часов, а измерение антронозированных производных может быть проведено не позднее 60 минут.

Determination of Carbohydrates in Plant Substances with an Anthrone Reagent. I.

L. MÁRKUS (MRS.)

Biochemical Department of the Agrochemical Research Institut, Budapest

Summary

First, I review the literature pertaining to the determination of carbohydrates by means of an anthrone reagent. Then, I report my investigations into the conditions of determining 15 carbohydrates in model solutions, under uniform circumstances. The results permit of the following statements :

1. In the case of different carbohydrates, it is possible to establish how the colour intensity changes with the reaction mixture being heated at 100° C for various periods of time. On this basis, as has been shown by Koehler's examinations, the carbohydrates can be classified in three groups. The behaviour of the types within the individual groups can be read off graphs Nos. 1, 2, and 3, and is as follows : —a) pentoses soon reach the colour maximum and this decreases rapidly ; b) ketoses soon reach the colour maximum and this decreases moderately ; c) aldoses soon reach the colour maximum and this decreases slowly.

2. In the Pulfrich photometer, the light-absorbing maximum of anthronated derivatives is at filter S 61.

3. The concentration curves of the individual carbohydrates I have taken to be between 50 and 60 γ.

4. The anthrone reagent can be kept for 168 hours without undergoing any essential change, while measuring the anthronated derivatives should take place within 60 minutes.